



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

TÍTULO

Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de
Escherichia coli ATCC 25922 comparado con furazolidona.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
CIRUJANO**

AUTOR

Bejarano Meléndez Jesús Alonso

ASESOR

Dr. Marco Antonio Alfaro Angulo

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Enfermedades infecciosas y transmisibles

Trujillo – Perú

2018

DEDICATORIA

A mi padre

Bejarano Tafur Jesús Cervando

Un gran ser humano que ha sido mi inspiración y apoyo constante, artífice y cómplice de mis logros, en momentos positivos y negativos. Perspicaz, positivo y perseverante.

A mi madre

Meléndez Malca Rosa María

Una gran persona que me apoya incansablemente a cumplir mis metas y seguir mis ideales, día a día se opone a las adversidades. Sacrificada, amorosa y responsable en la vida.

JESÚS BEJARANO

AGRADECIMIENTO

A mi asesor

Por ser mi guía y apoyar reiteradamente a mí persona, con paciencia, por actuar con profesionalismo para poder realizar esta investigación; sin usted no hubiera podido culminar este proyecto.

A mi familia

Mis abuelos quienes con mucho amor y humildad me inculcaron importantes enseñanzas, el origen de mis principios e ideales. Al día de hoy son mi mayor fortaleza y apoyo moral en la vida.

A mis amigos

Porque son como mis hermanos, quienes me motivaron y confiaron ciegamente en mí. Por la consideración y amistad sincera en cada aspecto de la vida, son los mejores.

A la universidad

Por darme la oportunidad de iniciar, culminar y realizar este sueño.

JESÚS BEJARANO

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado:

En cumplimiento del reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona”, la cual tiene como objetivo determinar el efecto antibacteriano comparado entre el aceite de *Escherichia coli* y furazolidona sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 29213. Se divide en los siguientes capítulos: Introducción, Método, resultados, discusión, conclusiones, recomendaciones, referencias y anexos. Sometiéndola a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

Jesús Alonso Bejarano Meléndez

ÍNDICE

PÁGINA DEL JURADO
DEDICATORIAi
AGRADECIMIENTO ii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDADiii
PRESENTACIÓNiv
ÍNDICEv
RESUMENvi
ABSTRACTvii
I. INTRODUCCIÓN 1
1.1. Realidad problemática 1
1.2. Trabajos previos 2
1.3. Teorías relacionadas al tema 5
1.4. Formulación del problema 7
1.5. Justificación del estudio 8
1.6. Hipótesis..... 8
1.7. Objetivo..... 8
II. MÉTODO..... 9
2.1. Diseño de investigación 9
2.2. Variables, operacionalización 9
2.3. Población y muestra..... 10
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad 11
2.5. Método de análisis de datos 12
2.6. Aspectos éticos 12
III. RESULTADOS..... 13
IV. DISCUSIÓN 15
V. CONCLUSIONES..... 16
VI. RECOMENDACIONES 16
VII. REFERENCIAS 17
ANEXOS..... 25

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona, mediante un estudio experimental; se utilizó placas Petri conteniendo cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, aceite esencial de *Minthostachys mollis* y furazolidona, se aplicó el método Kirby Bauer en 10 placas Petri. El grupo experimental fue tratado con aceite esencial de *Minthostachys mollis*, teniendo como grupo control la furazolidona. Se realizó la medición de los halos y se registraron los datos. Obteniéndose que el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 75% obtuvo un halo inhibitorio promedio de 16mm y al 50% de 12.7mm. Además, la furazolidona, con 100mg obtuvo un promedio de 27.1mm de efecto antibacteriano. Se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene menor efecto antibacteriano que la furazolidona sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Palabras clave: efecto antibacteriano, *Minthostachys*, furazolidona, *Escherichia*.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the antibacterial effect of the essential oil of *Minthostachys mollis* on strains of *Escherichia coli* ATCC 25922 compared to furazolidone, by means of an experimental study; Petri dishes containing strains of *Escherichia coli* ATCC 25922, essential oil of *Minthostachys mollis* and furazolidone were used, the Kirby Bauer method was applied in 10 Petri dishes. The experimental group was treated with essential oil of *Minthostachys mollis*, having as a control group the furazolidone. The measurement of the halos was performed and the data were recorded. Obtaining that the antibacterial effect of the essential oil of *Minthostachys mollis* at 75% obtained an average inhibitory halo of 16mm and 50% of 12.7mm. In addition, furazolidone with 100mg obtained an average of 27.1mm of antibacterial effect. It was concluded that the essential oil of *Minthostachys mollis* has less antibacterial effect than the furazolidone on strains of *Escherichia coli* ATCC 25922.

Keywords: efecto antibacteriano, *Minthostachys*, furazolidona, *Escherichia*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad problemática

Escherichia coli es una enterobacteria Gram negativa de forma bacilar que presenta flagelos, no esporulado. (1) Existen alrededor de 630 mil casos de infecciones por esta enterobacteria entre ancianos y niños reportados por la Organización mundial de la Salud. (2) En países en vías de desarrollo es responsable de la mayoría de infecciones intrahospitalarias, infecciones de tracto urinario en comunidad y gastroenteritis como agente etiológico principal. (3) Su amplia extensión y actividad se basa en su diversidad antigénica que aumenta la virulencia; actualmente tenemos a la *Escherichia coli enterohemorrágica* como el subtipo más letal y causante de procesos diarreicos severos. (4)

En tiempos pasados, las infecciones por *Escherichia coli* respondían favorablemente a los antibióticos, siendo las quinolonas, penicilinas, cefalosporinas y nitrofuranos las familias de fármacos más utilizados. (5) Estudios en Perú revelan que la resistencia antimicrobiana de esta bacteria frente a furoxona y otros fármacos es elevada, a pesar de ello son aún considerados de elección como primera alternativa de tratamiento para el caso de diarreas en establecimientos de primer nivel. (6) Como alternativa al tratamiento farmacológico, el hombre ha buscado utilizar plantas con fines medicinales para tratar enfermedades, utilizando sus aceites esenciales. (7)

Actualmente, de las 250 000 especies de plantas en el orbe, el 15% tiene actividad biológica, pero, la validación biomédica y farmacológica de los principios activos solo ha ocurrido en el 5% de especies. Conociendo esta realidad, es apropiado investigar a la planta *Minthostachys mollis* como agente antibacteriano para el tratamiento de las infecciones entéricas comunes a *Escherichia coli*. (8)

El *Minthostachys mollis* tiene forma de arbusto y consistencia leñosa, se caracteriza por encontrarse entre 2500 a 3500 metros de altura y abundar en suelo peruano. (9) El empleo de esta planta se ha extendido a nivel nacional en el contexto socioeconómico, cultural y principalmente para cuidado de la salud. (10) Estudios demostraron que esta planta posee metabolitos secundarios como alcaloides y fenoles, los cuales son responsables de sus propiedades digestivas y analgésicas, respectivamente. (11)

Entre los componentes útiles de esta planta, se incluyen fragmentos volátiles de tipo alcoholes, éteres y aldehídos que bajo la denominación de oleorresina se almacenan en los tallos. Estos principios activos explican la actividad biológica anti oxidante, anti microbiana y fúngica que presenta esta planta; siendo el motivo particular por el cual su aceite es utilizado en medicina popular dentro de nuestra realidad. (12)

1.2 Trabajos previos

Aigaje A. (Ecuador, 2017) identificó la acción antibacteriana de *Minthostachys mollis* frente a la *Porphyromonas gingivalis*, de diseño experimental, la muestra fue conformada por cepas de esta bacteria en muestras periodontales empleando el aceite obtenido por agua a concentraciones de 100%, 50% y 25 %, además empleando Clorhexidina 0,12%, ampicillina 10ug como positivo, y el agua como negativo; concluyendo que la actividad antimicrobiana de las sustancias antes mencionadas es mayor que el aceite *Minthostachys mollis*. (13)

Torrenegra M. et al (Colombia, 2016) evaluaron el espectro antimicrobiano del aceite de *Minthostachys mollis*, que se obtuvo mediante hojas bajo hidrodestilación, El diseño fue experimental; las muestras de muña llegaron de Pamplona Norte Santander Colombia. La prueba se aplicó contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*. Como resultado, la concentración capaz de ocasionar una inhibición de *Staphylococcus aureus* fue 500 ug/ml en tanto que para *Staphylococcus epidermidis* 600 ug/ml. En conclusión, el efecto de la muña fue positivo frente a dichas cepas sobre todo gracias a su gran contenido de monoterpenos. (12)

Montironi I. (Argentina, 2016) determinó la actividad antibacteriana del aceite esencial *Minthostachys Mollis* contra cepas de *Streptococcus uberis*, en un diseño experimental, las muestras de dicha cepa se obtuvieron de mastitis, a la vez que la planta fue obtenida de Villa Larca en la provincia de San Luis – Argentina. Estos compuestos presentaron efecto contra estos gérmenes y dañaron la estructura biofilm propia de las cepas ensayadas. En conclusión, este aceite demostró efecto positivo frente a la cepa. (14)

Abanto M, et al (Perú, 2016), evaluaron la actividad anti bacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis*, frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en un diseño experimental. La muestra estuvo conformada por cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 certificadas, utilizando el método de los discos de sensibilidad. Se concluye que el aceite esencial de hojas de *M. mollis*, tiene efecto anti bacteriano sobre las cepas de *E coli* ATCC 25922 y *S aureus* ATCC 25923. (15)

Pellegrini M et al (Argentina, 2014), investigaron la detección del quorum (el cual es un regulador de los factores de virulencia) y las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales de Argentina: *Salvia officinalis*, *Minthostachis mollis*, *Satureja odora*, *Schinus molle*, *Floribunda lepechinia*, y *Artemisa annua*. La actividad quorum se determinó midiendo la producción de violaceína en *Chromobacterium violaceum* a través de espectrofotometría ultra violeta visible y el cálculo de la mínima concentración inhibitoria quorum. Se determinó la actividad anti microbiana usando *E. coli*, *Listeria innocua* y *Staphylococcus aureus* como indicadores. La concentración mínima inhibitoria y la concentración bactericida mínima se calcularon realizando el ensayo de micro dilución en caldo. *M. mollis* mostró propiedades estadísticas concluyentes de inhibición de quorum. Este aceite reduce la producción de pigmentos en un 90% cuando se aplicó a una concentración sub letal (0.02%). La mayor actividad bacteriostática y bactericida fue mostrada por el aceite de *M. mollis*. (16)

Carhuapoma M, et. al. (Perú, 2014) determina el efecto antibacteriano del extracto oleoso de *Minthostachys mollis* contra *Helicobacter pylori*, *Shigella dysenteriae* y *Salmonella typhi*; diseño experimental; las muestras de dicha hoja fueron obtenidas en el distrito Huamanguilla a 3000 msnm, Huanta – Ayacucho y las cepas fueron cultivadas. Los resultados de concentración inhibitoria mínima fueron 21,41 mm (*S. dysenteriae*) y 14, 25 mm (*S. typhi*) Finalmente se detectó fenoles, los cuales explican la efectividad del mollis, concluyendo que existe efecto importante (17)

Huari G. (Perú, 2014) estudió el efecto antimicrobiano del oleoso *Minthostachys mollis* en *Streptococcus mutans* que fue sembrado en Agar tripticasa soya. Realizando diluciones de 25%, 50% y 100%, empleando como control negativo el dimetilsulfóxido, y positivo los discos amoxicilínicos. El diseño fue experimental, teniendo como población a cepas estándar de *Streptococcus mutans*. En conclusión, el aceite *Minthostachys mollis* al 100% muestra menor efecto antibacteriano que la Amoxicilina. (18)

Calderón D, et al (Ecuador, 2013) determinaron la actividad anti bacteriana de los aceites esenciales y de sus respectivas fracciones extraídos de *Lepechinia rufocampii* (salvia gateada) y *Minthostachys tormentosa* (Poleo grande) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. Las fracciones de aceite esencial con positividad anti bacteriana se obtuvieron sometiendo al aceite a cromatografía en columna y de capa fina. En cuanto al análisis microbiológico, se utilizó un screening por medio de la técnica de micro dilución en placa, la misma que nos permite una cuantificación de la concentración mínima inhibitoria, que se encuentra basada en el crecimiento bacteriano en presencia de diferentes concentraciones tanto del aceite esencial obtenido como de sus diferentes fracciones. Las concentraciones mínimas inhibitorias al 50% y 90% fueron indicadores de la actividad antibacteriana, determinados mediante ficha técnica. Los resultados obtenidos revelan que tanto el aceite esencial de *M. tormentosa* como ciertas fracciones obtenidas del mismo presentan actividad antibacteriana frente a *E coli* y *Salmonella typhimurium*. (19)

Azaña A (Perú, 2010), identificó el efecto antibacteriano del oleoso *Minthostachys mollis* utilizando la difusión por agar en disco en tres bacterias comunes en patología dentaria: *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella melaninogénica*, *Enterococcus faecalis*. El diseño fue experimental, el aceite se obtuvo de hojas secas, talluelos y las cepas del conducto radicular en pacientes con periodontitis apical crónica. La oleorresina oleosa se diluyó en concentraciones de 50% y 25% comparándose con Paramonoclorofenol alcanforado como positivo y alcohol etílico al 70°, como negativo. Como resultado en los cultivos para *Fusobacterium nucleatum* se mostró un halo inhibitorio total al momento de utilizar aceite muña al 100% al igual que al 50%. En consecuencia, el aceite de *Minthostachys mollis* mostró efectividad antibacteriana cualitativa y cuantitativa frente a la cepa anteriormente mencionada (20)

Malpartida Q. (Perú, 2010) se determinó el efecto esencial de *Minthostachys mollis* comparado con paramonoclorofenol alcanforado además de gluconato de clorhexidina al 2% contra *E. faecalis*. El diseño fue experimental, la población de las bacterias se obtuvo de periodontitis apical persistente y la muña en el distrito Huamanguilla a 3276 msnm en la provincia de Huanta – Ayacucho. Como resultado, se evidenció que la clorhexidina al 2% tuvo efecto inhibitor superior frente a *Minthostachys mollis* al igual para paramonoclorofenol alcanforado. En conclusión, el efecto inhibitor del aceite frente a las otras dos sustancias fue menor en el cultivo de *E. faecalis*. (21)

1.3 Teorías relacionadas al tema

La *Escherichia coli* pertenece a la familia de las enterobacterias que son bacilos Gram negativos que se encuentran en suelo, agua, vegetación y la flora intestinal normal del hombre y de los animales. Su pared está compuesta por peptidoglucano, un fosfolípido doble, además de lipopolisacáridos, lipoproteínas, purinas y otras, contando con unos apéndices u organelas que se irradian hacia el exterior y que le sirven como aparato de locomoción. (22)

Sus lipopolisacáridos tienen tres dominios, un esqueleto de lípido, un oligosacárido fosforilado y cadenas laterales de repetición. Posee un lípido A, que es una exotoxina biológicamente bien activa; el oligosacárido unido al lipopolisacárido se denomina antígeno. Las bacterias contienen enzimas para atacar la lactosa produciendo indol por triptófano. La *E.Coli* infectante se considera enterotoxígena y produce severas diarreas especialmente en menores, ancianos e inmunocomprometidos. La enterotoxina favorece la secreción masiva de líquido y el diagnóstico de la misma que no se confirma fácilmente porque únicamente está basada en identificar la toxina termolábil que es codificada por diversos genes y la toxina termoestable, lesionan la mucosa causando pérdida de vellosidades. Su patogenia tiene tres pasos, adherencia a los enterocitos, inducción de señales transductivas en enterocitos y el desarrollo de adherencia a éstos. Solo es posible realizar un diagnóstico de infecciones por *E. coli* cuando se detecta los genes codificadores de la virulencia mediante sondas de ADN o PCR. (23)

Para el diagnóstico de infección se utiliza el ECEH 0157:H7 pues estas cepas fermentan el solitol y forman colonias en placas de agar Mkconkey Sorbitos, el tratamiento de infección se hace empleando medidas de soportes. Las cepas específicas de *E. coli* enteroinvasivas son detectadas cultivándolas y obteniendo como resultado unas colonias que son negativas a lactosa. (24) La antibiótico terapia es muy beneficiosa en este grupo de pacientes, aunque es relevante darle inicio luego de descartar infección por las cepas entero hemorrágicas. La furazolidona es un quimioterápico de elección para el tratamiento de infección por *Escherichia coli*, (25) que actúa destruyendo el ADN de las bacterias y probablemente otras biomoléculas, inhibe específicamente la síntesis de proteínas, afectando la función de los ribosomas, contribuyendo a la muerte de la bacteria. (26)

Es un bactericida del tracto gastrointestinal especialmente indicado para infecciones por cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella* y, *Shigella*. Luego de la ingesta de 5mg/kg por vía oral se detectan niveles en el suero de hasta 0,8mg por mililitro y de 8,5 mg/ml en orina; se absorbe bien por vía oral y alcanza concentraciones suficientes para ejercer su acción. Se metaboliza mediante reducción del grupo nitro a hidroxilamina. (27)

El mecanismo de acción de la Furazolidona consiste en interferir los sistemas enzimáticos de los gérmenes en el ciclo de Krebs. No es indicado su uso en casos de hipersensibilidad, gestantes y antecedentes de anemia hemolítica, como tampoco durante el primer trimestre del embarazo. La dosis en niños de 5 a 6 años es 49,5 mg cada 6 horas, en niños de 1 a 4 años 24 a 33 mg cada 6 horas y en la mayoría de adultos es de 400 mg en cuatro dosis. (28)

El aumento de resistencia a las bacterias y poca acción de los medicamentos actualmente han originado padecimientos de gran severidad por acción de microorganismos. La escasa inmunidad celular del paciente aunado a la capacidad de generar resistencia a medicamentos por bacterias, han elevado la tasa de toxicidad en las personas. Por ello, se están impulsando la creación de mejores alternativas terapéuticas y estudios de diversas cepas con acción patógena para mejorar los tratamientos modernos. Es así, que los compuestos de diversas plantas aromáticas aparecen con gran potencial para participar como agentes antibacterianos coadyuvantes. (29)

La *Escherichia coli* se multiplica, se torna muy virulenta, y se ha vuelto resistente a diversos antibióticos, debido a ello se busca terapias alternativas como los aceites esenciales, que sirven como tratamientos para enfermedades metabólicas o degenerativas. (30) Optar por los oleos de aceites esenciales es una opción para combatir enfermedades que han generado epidemias y no han respondido a terapias medicamentosas comunes. (31)

Siendo el *Minthostachys mollis*, una de las plantas con mayor potencial, se caracteriza por tener una altura de 0.80 - 1.20 mts, ser frondosa y tener abundantes hojas aserradas. Habita alrededor de 2500 – 3500 metros sobre el nivel del mar, siendo característica de los valles andinos de Perú y Bolivia. Sus brácteas son foliáceas, presenta cáliz con 13 inervaciones, corola tubular con 5 lóbulos además de estambres pequeños. Está Distribuida en todos los países sudamericanos excepto Paraguay, Chile y las Guyanas. Existen 12 especies, siendo relevantes el *Minthostachys mollis*., *M. Glabresans* y *M. Setosa*. Sus componentes son aceite

esencial, glucósidos, mucílagos, saponinas. Y poseen propiedades carminativas, siendo también aplicable en la curación de fracturas y tumores. (32)

El aceite de *Minthostachys mollis*, presenta una estructura aldehídica, cetónica, alcohólica, con ésteres, éteres y terpenos en mayor porcentaje. La característica lipofílica del aceite le permite traspasar membranas e inducir fugas en la permeabilidad de cada uno de los componentes estructurales generando pérdidas iónicas. Al producir daño en la estructura esto conllevará a una cascada de alteraciones en otros orgánulos por lo cual no solo habrá afectación localizada sino difusa en los microorganismos. En casos singulares el utilizar de manera pura los compuestos puede favorecer a una mayor acción frente a patógenos al compararlo con los aceites extraídos. (33)

El carvacol es uno de los componentes más importantes del aceite y de actividad más notables, pues basa su mecanismo en desintegrar los precursores grasos, enlenteciendo el intercambio de sustancias a través de la membrana. Este compuesto acaba las reservas ATP bacterianas ocasionando un pésimo metabolismo. Otro componente, el cinaldehído, inhibe enzimas como carboxilasa y proteasas al bloquear la vía respiratoria de las bacterias impidiendo el tránsito normal del potasio y modificando el pH. Pero, el dato más relevante en torno a su acción se basa en la existencia por parte de la bacteria de una diversidad de posibilidades de accionar frente a los tratamientos. (34)

1.4 Formulación del problema

¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona?

1.5 Justificación del estudio

En nuestro país son exiguos los estudios que se centran en las propiedades del aceite de *Minthostachys mollis* contra las enfermedades agudas entéricas, siendo el motivo principal para la elaboración de este proyecto que tiene como objetivo determinar su efecto antibacteriano y servir de antecedente explicativo. Los resultados del estudio servirán para incrementar el conocimiento sobre las propiedades de la planta frente a la cepa estudiada además de promover estudios similares y descubrir nuevas propiedades. Se espera que el presente trabajo sea una referencia importante para que esta planta forme parte de la esencia de medicamentos novedosos que sirvan de alternativa y sean tan efectivos como los actuales frente a infecciones agudas entéricas, pero con menos efectos adversos para el organismo.

1.6 Hipótesis

H₁: El aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene mayor efecto antibacteriano que la furazolidona sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

H₀: El aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene menor efecto antibacteriano que la furazolidona sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.7 Objetivos

Objetivo General:

Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona.

Objetivos Específicos:

- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Determinar el efecto antibacteriano de furazolidona, sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación: experimental puro, múltiples repeticiones con post prueba.

RG1 X1 O1

RG2 X2 O2

RG3 X3 O3

RG4 X4 O4

R: asignación al azar.

RG₁₊₄: Placas Petri con cepas de *E. coli* ATCC 25922 elegidas al azar.

X₁₊₄: Aplicación del tratamiento, donde:

G1: Concentración de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 75%.

G2: Concentración de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50%.

G3: Control positivo con furazolidona.

G4: Control negativo con dimetil sulfóxido.

O₁₊₄: Observación del halo de inhibición post tratamiento.

2.2. Variables y operacionalización

Variable independiente: Administración de aceite de *Minthostachys mollis* y furazolidona.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano

Operacionalización de variables:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
Administración de aceite <i>Minthostachys mollis</i> y furazolidona	Emplear un procedimiento específico para el mejoramiento de una enfermedad o condición patológica, en este caso antibacteriano. (35)	La administración consistió en aceite diluido de <i>Minthostachys mollis</i> a dos concentraciones (50 y 75%), dimetil sulfóxido y 100 mg de furazolidona.	Tratamiento antibacteriano Tratamiento control	Cualitativa nominal
Efecto antibacteriano	“Resultado de una acción o fuerza que inhibe o destruye microorganismos, puede ser bactericida o bacteriostático.” (35)	Se consideró que tuvo efecto si el halo de inhibición fue mayor o igual a 17mm. (36) (Anexo 1)	Con efecto Sin efecto	Cualitativa nominal

2.3 Población y muestra

La población estuvo constituida por cepas cultivadas de *Escherichia coli* ATCC 25922, en el laboratorio clínico San José de Trujillo.

Muestra por conveniencia.

Se utilizaron 10 placas Petri y se realizaron 10 observaciones, en las placas se administró al azar el tratamiento con *Minthostachys mollis*, furazolidona y el control negativo de dimetil sulfóxido.

La unidad de análisis fue el diámetro del halo inhibitorio.

Los criterios de inclusión fueron las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, cultivadas en laboratorio clínico San José de Trujillo, las placas con Agar Mueller – Hinton con altura de 4 mm y las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 que tuvieron como máximo de 24 horas de cultivadas. Se procedió a la exclusión siempre y cuando las placas con cepas de *Escherichia coli* ATCC 2922 estuvieran contaminadas y cuando no hubiera evidencia de crecimiento bacteriano.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

Se aplicó la observación como técnica. La ficha de registro de datos es el instrumento en el cual se registraron los datos como el número de repeticiones, el fármaco utilizado y las diluciones (Anexo 2).

La obtención del aceite fue a base de hojas secas de *Minthostachys mollis*, obtenidas del mercado La Hermelinda de Trujillo, lugar en el cual poseen certificación del SENASA, a continuación, fueron llevadas hasta el laboratorio dentro de un recipiente conservado y lleno de agua, no sobrepasaron las 24 horas luego de la extracción, para no afectar su potencial antibacteriano. Las hojas de *Minthostachys mollis* ingresaron al proceso de destilación de arrastre a vapor de agua, mediante la diferencia de densidades entre el aceite y el agua gracias a la pera de decantación, se separó el destilado. Cualquier impureza a causa del agua se retiró con el sulfato de sodio anhidro, el cual las deshidrató, filtrando luego el producto final. El aceite se mantuvo a una temperatura de 4°C dentro de vidrios herméticos. (37) (Anexo 3)

Las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron obtenidas en el Instituto nacional de la salud ya que cuenta con certificación para proveer estas cepas, posteriormente se llevaron al laboratorio. La sensibilidad y resistencia bacteriana se estableció según el Instituto de normas clínicas y laboratorio (36). Finalmente, las cepas fueron distribuidas en placas Petri que contenían agar Mueller Hinton e incubadas a 37°C. (Anexo 4)

Al proceder al análisis del efecto antibacteriano del *Minthostachys mollis* se utilizó el método Kirby Bauer (38), disponiendo así de discos de papel filtrados con aceite esencial impregnado a concentraciones de 50% y 75% respectivamente, con el objetivo de evaluar el efecto. Los discos fueron colocados sobre las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 cultivadas en las placas Petri, posteriormente interpretando sus resultados. El control positivo estuvo conformado por discos de furazolidona de 100 mg con patente del laboratorio INDUQUIMICA S.A. con registro sanitario NG2249, además de certificado por el MINSA, y finalmente el control negativo dimetil sulfóxido. (Anexo 5)

La validez y confiabilidad no es pertinente para el instrumento ya que solo se registrarán los datos correspondientes al tratamiento aplicado y al halo de inhibición para medir la eficacia de los tratamientos indicados.

2.5 Métodos de análisis de datos

La base de datos se elaboró en una tabla utilizando el procesador de texto Microsoft Excel 2013 e identificando cada grupo de estudio según las diluciones. A continuación, se registraron las medidas de los halos inhibitorios a las 72 horas por parte de las diluciones y los controles tanto negativo como positivo. Mediante estos datos se aplicaron promedios y varianzas para evaluar los objetivos planteados en el trabajo. La prueba de tukey fue utilizada para comparar las medias de los tratamientos aplicados (39)

2.6 Aspectos éticos

Estudio in vitro ligado a cumplir con las normas de bioseguridad establecidas por el Manual de Bioseguridad en laboratorios de ensayo biomédicos y clínicos dados por el Ministerio de la Salud (40). Además, se consideró el permiso del laboratorio clínico San José de Trujillo para la ejecución del trabajo. (Anexo 6)

III RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antibacteriano del aceite de *Minthostachys mollis*, sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

concentraciones	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
concentración 75%	16.0	1.3	14.0	18.0
concentración 50%	12.7	0.8	12.0	14.0

Fuente: elaborado por el autor

En la tabla 1, las concentraciones de aceite esencial al 75% y 50% obtienen una media de halo inhibitorio de 16mm y 12.7mm respectivamente, demostrando que la concentración al 75% tiene mayor efecto antibacteriano que al 50%.

Tabla 2. Efecto antibacteriano de la furazolidona contra *Escherichia coli* ATCC 25922

concentraciones	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
furazolidona	27.1	1.1	25.0	29.0

Fuente: elaborado por el autor

En la tabla 2, se observa que las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron sensibles a oxacilina, con un promedio de halo inhibitorio de 27.1mm.

Tabla 3a. Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

origen de las variaciones	suma de cuadrados	grados de libertad	promedio de los cuadrados	F	significancia
Entre grupos	1138.2	2.0	569.1	465.6	1.18418E-21
Dentro de los grupos	33.0	27.0	1.2		
Total	1171.2	29.0			

Fuente: elaborado por el autor

En la tabla 3a, se muestra una p de significancia > 0.05 , determinando que existe diferencia estadística poco significativa entre las concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y furazolidona.

Tabla 3b. Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y furazolidona. (prueba HSD tukey)

tratamiento	N	subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
50,00	10		12.7			
75,00	10			16.0		
furazolidona	10					27.1
Sig.		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Fuente: elaborado por el autor

En la tabla 3b, se comparan las medias de los tratamientos aplicados en el experimento para comparar el efecto antibacteriano. Evidenciando que el efecto antibacteriano que predomina es el aplicado con furazolidona.

IV DISCUSIÓN

Teniendo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona. Se obtuvo como resultado que el efecto antibacteriano del aceite esencial *Minthostachys mollis* es menor que la furazolidona, pero sí tiene efecto frente a la bacteria estudiada.

Aunque no se encontraron estudios previos que determinen el efecto antibacteriano del aceite de *Minthostachys mollis* frente a furazolidona, sí se obtuvieron referencias a nivel internacional y nacional que muestran efecto antibacteriano por parte del aceite esencial de la planta frente a *Escherichia coli*. Estas investigaciones coinciden con los resultados obtenidos, por ejemplo, en Perú, Abanto M, et al (8), mostró en un estudio experimental que el efecto del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* frente a cepas de *Escherichia coli* tenía efecto antibacteriano.

Un aporte importante fueron los resultados del estudio de Torrenegra M. et al (4) quien demostró que el aceite de *Minthostachys mollis* tuvo efecto antibacteriano importante frente a *Escherichia coli* y otras bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, a una concentración inhibitoria mínima de 500 ug/ml y 600 ug/ml respectivamente. Concluyendo que el efecto antibacteriano de la planta se debía a su gran contenido de monoterpenos.

Finalmente, los resultados obtenidos en el estudio demuestran que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* inhibe el crecimiento de cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, postulado que es apoyado por estudios antes mencionados. Por lo cual se espera que el presente estudio sea un aporte y antecedente importante que incentive al estudio e investigación de las propiedades de la planta *Minthostachys mollis* y su posible uso como tratamiento coadyuvante. Además de tener en cuenta que, para asegurar el potencial antibacteriano de la planta, la muestra debe recolectarse en el suelo o estación adecuada, ya que influirá en el proceso del experimento.

V CONCLUSIONES

1. El aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene menor efecto antibacteriano que la furazolidona sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. El efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 75% y al 50% tuvo un halo promedio de 16 mm y 12.5mm sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, respectivamente.
3. El efecto antibacteriano de la furazolidona tuvo un halo de 27.1 mm sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

VI RECOMENDACIONES.

1. Realizar el experimento con las medidas de bioseguridad adecuadas y siguiendo el procedimiento rigurosamente para evitar alterar los resultados obtenidos.
2. Tener en cuenta la obtención de la muestra de la planta en la estación y suelo idóneos para no perder el potencial de sus propiedades antibacterianas.
3. Realizar estudios sobre las propiedades curativas de fracturas y tumores del aceite esencial de *Minthostachys mollis* para determinar su efectividad.

VII REFERENCIAS

1. P. R. Murray. Microbiología Médica. 8va edición. 2017. Mosby (Elsevier Science). Páginas: 326 – 329. (Citado el 7 de Diciembre del 2018).
2. Organización Mundial de la Salud. Escherichia Coli, Actualización 2016. (Citado el 7 de Diciembre del 2018). Disponible en:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
3. Dan L. et al. Harrison Principios de Medicina Interna. 18ª edición. MC GRAW HILL INTERAMERICANA EDITORES S. A. de C. V. 2012. Páginas: 937 -940. (Citado el 7 de Diciembre del 2018).
4. Farfán García A, Aiza Rojas S, Vargas Cárdenas F, Vargas Remolina I. Mecanismos de Virulencia de Escherichia Coli Enteropatogena. Rev Chilena Infectol 2016; 33 (4): 438-450. (Citado el 7 de Diciembre del 2018). Disponible en:
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf>
5. Aldaz A, Arocas V, Sánchez O, Riera T, Luján J, Brumós I, et al. Introducción a las interacciones farmacológicas. 1ª ed. Madrid: Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria; 2013. ISBN 978-84-695-9254-0. (Citado el 18 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjLibTmrdLbAhXFRhQKHTLtDUIQFgggMAA&url=https%3A%2F%2Fwww.sefh.es%2Fbibliotecavirtual%2Finteracc2014%2FInteraccionesFarmacologicas_pr.pdf&usg=AOvVaw0JQ-IzqNfRUXf7RztfVaKd
6. Coralith G. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. Acta med Per. 2012; 29 (2): 99-103. (Citado el 17 de Mayo del 2018). Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v29n2/a10v29n2.pdf>
7. De Souza R. Instituto de Patología tropical y salud pública. Revista de patología Tropical. UFG 2014; 43 (2). ISSN 0301-0406. (Citado el 17 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjjiKGWp9LbAhVJVxQKHdYkCJoQFgggMAA&url=https%3A%2F%2Fwww.paho.org%2Fhq%2Findex.php%3Foption%3Dcom_docman%26task%3Ddoc_download%26Itemid%3D%26gid%3D40719%26lang%3Dpt&usg=AOvVaw2mMMK7au3JsV0baCIbj6zY

8. Sánchez R, Rangel M, Cristóbal G, Martínez A, Pérez M. Sistematización del conocimiento tradicional asociado al uso de las plantas medicinales en una comunidad mazahua. ReIbCI. 2016; 3 (6): 153-160. ISSN 2334-2501. (Citado el 17 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Griselda_Cristobal-Sanchez/publication/315738653_Sistematizacion_del_conocimiento_tradicional_asociado_al_uso_de_las_plantas_medicinales_en_una_comunidad_mazahua/links/58e08783a6fdcc41bf922eaa/Sistematizacion-del-conocimiento-tradicional-asociado-al-uso-de-las-plantas-medicinales-en-una-comunidad-mazahua.pdf?origin=publication_detail
9. Raymond M. Checklist and key of genera and species of the Lamiaceae of the Brazilian Amazon. Rodriguésia. 2012; 63(1): 129-144. (Citado el 7 de Diciembre del 2018). Disponible en:
<http://www.scielo.br/pdf/rod/v63n1/a10v63n1.pdf>
10. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO Y METABOLITOS DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Minthostachys mollis* (MUÑA). Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2008; 25(3): 298-301. (Citado el 7 de Diciembre del 2018). Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n3/a08v25n3>
11. Pauer P, Park J, Roca M, Salazar G. Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima – Perú. Horiz Med. 2018; 18(3): 25-29. (Citado el 7 de Diciembre del 2018). Disponible en:
<http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/viewFile/914/495>
12. Torrenegra M, Granados C, Durán M, León G, Yáñez X, Martínez C, et al. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. Ori Rev. 2016; 1 (20): 69-74. ISSN 0121-3709. (Citado el 18 de Mayo del 2018). Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwivvvWlrdLbAhXGtBQKHWsuCJwQFggnMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.redalyc.org%2Fpdf%2F896%2F89647074008.pdf&usg=AOvVaw3268ujcm31gICsABeWVi->

13. Aigaje A, Zurita M. Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*. Dom Cien (Ecu) 2017; 3 (1): 3-20. ISSN 2477-8818. (Citado el 16 de Mayo del 2018). Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjtkZ6XndPbAhUEbRQKHf8kCaEQFggnMAA&url=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F5802909.pdf&usg=AOvVaw1PkvJW0KFQZhHa2SVqsjwC>
14. Montironi I, Cariddi L, Reinoso E. Evaluación de la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* y limonero contra cepas de *Streptococcus uberis* aisladas de la mastitis bovina. Argent Microbiol 2016; 48 (3): 210-216. (Citado el 19 de Mayo del 2018). Disponible en:
<http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v48n3/v48n3a07.pdf>
15. Abanto M, Perez R. Efecto anti bacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachis mollis* griseb”muña” en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Farmacia y Bioquímica, Cajamarca. 2016. (Citado el 19 de Mayo del 2018). Disponible en:
<http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/352/FYB-008-2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Pellegrini M, Alvarez M, Ponce A, Cugnata M, De Piano F, Fuselli F. Detección de quimio y actividad antimicrobiana de especies aromáticas de Sudamérica. Journal of Essential Oil Research, 2014; 26: 6. (Citado el 19 de Mayo del 2018). Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10412905.2014.947387?scroll=top&needAccess=true>
17. Carhuapoma M, López S, Roque M, Velapatiño B, Bell C, Whu D. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb “RUYAQ MUÑA”. Ciencia e Investigación. 2009; 12(2): 83-89. ISSN 1561-0861. (Citado el 20 de Mayo del 2018). Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiKo4Ns9LbAhXItkKHX40B34QFggnMAA&url=http%3A%2F%2Frevistasinvestigacion.unmsm.edu.pe%2Findex.php%2Ffarma%2Farticulo%2FviewFile%2F3404%2F4499&usg=AOvVaw08RHnJdzzc7dkgQDiNxMV>

18. Huari G, Grace M. Efecto antibacteriano in vitro del aceite de *Minthostachys mollis* en *Streptococcus mutans*. [Tesis doctoral]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos; 2014. (Citado el 20 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjfjuSAtNLbAhXtuFkKHYRhDHsQFggnMAA&url=http%3A%2F%2Fcybertesis.unmsm.edu.pe%2Fbitstream%2Fcybertesis%2F3680%2F1%2FHuari_gg.pdf&usg=AOvVaw2s6WFC4AeHsFW6GW3Lm2Od
19. Calderón D, Guerrero A. Análisis del efecto antibacteriano de aceites de *Lepichinia rufocampii* y *Mythostachis tormentosa* sobre cepas de *E. coli* y *Salmonella typhimurium*. Tesis Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Bioquímica y Farmacia, 2013.458-465. (Citado el 20 de Mayo del 2018). Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwi0jJXjtNLbAhVHPBQKHRk7AjQQFggpMAA&url=http%3A%2F%2Fdspace.ucuenca.edu.ec%2Fbitstream%2F123456789%2F4542%2F1%2FTesis.pdf&usg=AOvVaw3vWnFAQzeEtszCislUPqhQ>
20. Azaña I. Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. [Tesis doctoral]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos; 2010. (Citado el 21 de Mayo del 2018). Disponible en:
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2183/Azana_ei.pdf?sequence=1&isAllowed=y
21. Malpartida Q, Federico M. Efecto inhibidor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación al Paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro. [Tesis doctoral]. Lima: Vicerrectorado de investigación y postgrado, Universidad Alas Peruanas; 2010. (Citado el 21 de Mayo del 2018). Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiX8Y7TtdLbAhWMaxQKHSfqCZYQFggnMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.cop.org.pe%2Fbib%2Ftesis%2FFEDERICOMARTINMALPARTIDAQUISPE.pdf&usg=AOvVaw0xQruHiwCEhMXfJ-XkdDHH>

22. Lopardo H, Predari S, Vay C. Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología. 1ª ed. Buenos Aires: 2016. ISBN 978-987-26716-6-2. (Citado el 22 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjIndLR9dHbAhXGchQKHbnLA-sQFghBMAM&url=http%3A%2F%2Faam.org.ar%2Fmanual%2520bacteriologia%2520clinica.pdf&usg=AOvVaw12zhKrP1yhZQrgfKIz_6up
23. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, Mietzner T. Microbiología médica. 25ª ed. México DF: McGraw Hill; 2011. ISBN 978-607-15-0503-3. (Citado el 22 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwibs5CLt9LbAhWBbxQKHZwSBOsQFggnMAA&url=http%3A%2F%2Fredlagrey.com%2Ffiles%2FMicrobiologia_Medica_Jawetz_25_www.rinconmedico.smffy.com.pdf&usg=AOvVaw2gyqeI9GHZ_hoaG50o1Big
24. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología Médica. 7ª ed. Madrid: Elseiver; 2013. ISBN 978-84-8174-927-4. (Citado el 23 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwirpeXlt9LbAhXJvBQKHQtKA-cQFggnMAA&url=https%3A%2F%2Fparabolasdocotidiano.files.wordpress.com%2F2011%2F10%2Fmicrobiologia_murray.pdf&usg=AOvVaw3Abp3w0_85mFdi2HYRi78v
25. Gursale S, Chargulla S, Khanwelkar C, Thorat V. Metronidazol y furazolidona, inductores del Síndrome Stevens Johnson. Rev Indian Medical Gazette. 2010. (Citado el 24 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Dr_Sujeet_Charugulla/publication/230612884_Metronidazole-Furazolidone_induced_Stevens-Johnson_Syndrome/links/0fcfd5021657fa7cac000000/Metronidazole-Furazolidone-induced-Stevens-Johnson-Syndrome.pdf?origin=publication_detail
26. Soares G, Figueiredo L, Favri M, Corteli S, Duarte P, Feres M. Mecanismo de acción de antibióticos sistémicos usados en el tratamiento periodontal y el mecanismo de resistencia bacteriana a estas drogas. J Appl Oral Sci 2012; 20(3):295-309. (Citado el 24 de Mayo del 2018). Disponible en:
<http://europepmc.org/articles/pmc3881775?pdf=render>

27. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza C, Moro A, Portolés A. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18ª ed. Buenos Aires; Madrid: Médica Panamericana; 2008. ISBN 978-84-9835-168-2.
28. Laurence L, John S, Keith L. Goodman and Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. Madrid: McGraw Hill; 2012. ISBN 970-10-5739-2. (Citado el 25 de Mayo del 2018). Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwi0lcvhu9LbAhVGShQKHTGeB0gQFggNMAA&url=https%3A%2F%2Foncouasd.files.wordpress.com%2F2015%2F06%2Fgoodman-farmacologia.pdf&usg=AOvVaw0r4iaRPdg01ymSIbQGQBGY>
29. Carbalho L, Fernandes V, Bersan S, Guilherme M, Tasca A, Sartoratto A, et al. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales contra *Streptococcus mutans* y sus efectos antiproliferativos. Medicina complementaria y alternativa basada en la evidencia. 2012; 12.
30. Butkienė R., Bidienė J., Judzentiene A. Variaciones de los metabolitos secundarios (aceites esenciales) en varios órganos de plantas de *Juniperus communis* con crecimiento en Lituania. Baltic Forestry. 2015; 21(1): 59-64.
31. Mulyaningsih S., Sporer F., Zimmermann S., Reichling J., Wink M. Propiedades sinérgicas de la aromadendrene terpenoides y 1,8-cineol a partir del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* contra los agentes patógenos a los antibióticos susceptibles y resistentes a los antibióticos. Phytomedicina. 2010; 17(13): 10661-10666.
32. Quinte H. Estudio de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña por cromatografía de gases – espectrometría de masas en tres niveles altitudinales en el distrito de Huando. Universidad Nacional de Huancavelica. Acobamba, 2015. (Citado el 5 de Junio del 2018). Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=7&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwj129vDo9PbAhXIWxQKHcOHB4sQFghzMAY&url=http%3A%2F%2Frepositorio.unh.edu.pe%2Fbitstream%2Fhandle%2FUNH%2F116%2FTP%2520UNH%2520AGROIND%2520%25200030.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usg=AOvVaw0Jb9z1bdySiKV9BaN2JLlx>

33. Saad N. Muller C, Lobstein A. Principales bioactividades y mecanismo de acción de los aceites esenciales y sus componentes. *Diario de sabores y fragancias*. 2013; 28(5): 2269-279.
34. Influencia del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. en la producción de enterotoxinas, permeabilidad de la membrana y características superficiales de *Staphylococcus aureus*. *Revista Internacional de Microbiología Alimentaria*. 2010; 137(2-3): 308-311.
35. Un Panda. *Diccionario Médico conciso y de bolsillo*. 2ª edición. Panamá: Jaypee Highlights Medical Publishers; 2013. ISBN 978-9962-678-26-7. (Citado el 7 de Junio del 2018). Disponible en:
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjKrI-p9tHbAhWEOBQKHel9CFUQFggnMAA&url=https%3A%2F%2F3enfnocturno.files.wordpress.com%2F2017%2F08%2Fdiccionario-medico.pdf&usg=AOvVaw3Y4s-7sFrXBF9XtYTtoAYK>
36. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 27th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2017. ISBN 1-56238-805-3. (Citado el 8 de Junio del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiMo9GVsNHbAhVG1xQKHc_KCzIQFgg1MAA&url=http%3A%2F%2Fwww.facm.ucl.ac.be%2Fintranet%2FCLSI%2FCLSI-2017-M100-S27.pdf&usg=AOvVaw20dTvQGMMKfFYIZjRnXJLj
37. Patiño L, Saavedra A, Martínez J. Extracción por arrastre de vapor de aceite esencial del romero. Bolivia. Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca. 2014. (Citado el 9 de Junio del 2018). Disponible en:
http://www.usfx.bo/nueva/Dicyt/Handbooks/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y%20Agrarias_2/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y%20Agrarias_Handbook_Vol%20II/PAPERS_25/art15.pdf
38. Bauer A, Kirby W. Test de susceptibilidad antibiótica por el método del disco simple estandarizado. *Am J ClinPathol* 1966; 45(4):493-496. (Citado el 23 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwikt4v7-9HbAhXG7xQKHd_GAxwQFghLMAM&url=https%3A%2F%2Fwww.asm.org%2Fc

[cLibraryFiles%2FFILENAME%2F0000000295%2F105bauer.pdf&usg=AOvVaw3ZT
EPRT6xZS --bcC67ZsH](#)

39. Martínez M, Sánchez A, Toledo E, Faulín J. Bioestadística Amigable. 3° Edición. Barcelona – España: ELSEVIER. 2014. pp. 205. ISBN: 978-84-9022-500-4.
40. Ministerio de salud pública y bienestar social. Documento técnico de gestión. Manual de bioseguridad. Lima, 2012. (Citado el 1 de Junio del 2018). Disponible en:
<http://www.hnseb.gob.pe/epi/descargas/2012/manuales/bioseguridad.pdf>
41. Cona E. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. RevChil Infect. 2002; 19(2): 77-81. (Citado el 18 de Mayo del 2018). Disponible en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjU3u_tHbAhVBuRQKHV87CPUQFggpMAA&url=https%3A%2F%2Fscielo.conicyt.cl%2Fpdf%2Frci%2Fv19s2%2Fart01.pdf&usg=AOvVaw2xEkva8qFvD8TcZKIh0o1p
42. Presupuestos de gastos según Gobierno de la Republica. Perú. 2018. (Citado el 13 de Junio del 2018). Disponible en:
<http://dnpp.mef.gob.pe/cnsClasif/faces/clasifGasto.jsp>

ANEXOS

ANEXO 1

test report group	antimicrobial agent	disk content	interpretative categories and zone diameter breakpoints (nearest whole mm)			
			S	SDD	I	R
nitrofuranos						
U	nitrofurantoin	300 ug	>= 17	-	15-16	<=14

Fuente: CLSI (36)

ANEXO 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona.

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)				
Nº	Aceite esencial de Muña		Furazolidona	Dimetil sulfóxido
	75%	50%		
1	16	12	28	0
2	18	13	27	0
3	18	14	28	0
4	14	13	26	0
5	15	12	25	0
6	17	12	27	0
7	16	14	27	0
8	16	12	27	0
9	15	12	29	0
10	15	13	27	0

ANEXO 3

Procedimiento para la obtención del aceite esencial y las cepas (37)

1. Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de Nombre científico "*Minthostachys mollis*", se obtuvieron en el mercado La Hermelinda de Trujillo, procedentes de la localidad de Trujillo, en una cantidad de 5 a 6 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio clínico San José de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la "muestra fresca" (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como "muestra seca" (MS).

2. Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización.

3. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Escherichia coli* ATCC 25922, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.) (28)

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Escherichia coli* ATCC 25922, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 µL de AE y 250 µL de DMSO al tubo de 75%, 500 µL de AE y 500 µL de DMSO al tubo de 50%, y 250 µL de AE y 750 µL de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 µL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 µL de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 µL de AE al 50% en otro disco, 10 µL de AE al 75% en otro disco y 10 µL de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Escherichia coli* ATCC 25922, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con Furazolidona (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Minthostachys mollis* y para Furazolidona. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI. (29)

ANEXO 4

AGAR MUELLER – HINTON (41)

Se utiliza para el análisis de sensibilidad antibacteriana de aislados de microorganismos exigentes conforme a las normas del Comité Europeo de Antibiógramas (EUCAST)

Para realizar el control de calidad del usuario, se deben consultar las recomendaciones de EUCAST. Inocular muestras representativas con las cepas de *Escherichia Coli* ATCC 25922. Incubar las placas, preferiblemente en posición invertida, según las condiciones de temperatura, tiempo y que son 41 ± 1 °C en atmósfera micro aerobia durante 24 h

Preparar el agar a base de deshidratación. Post autoclavado enfríe en baño a 45-50° C, Verter a placa en superficie horizontal 4 mm de profundidad. Volumen: 60-70 ml para placas de 150 mm y 25-30 ml para placas de 100 mm enfriar a temperatura ambiente y almacenar en refrigeración (4-8 °C). Duración: 7 y hasta 14 días.

Para realizar el procedimiento de análisis de susceptibilidad antibacteriana basado en el método Kirby-Bauer, de uso generalizado, un inóculo de crecimiento confluyente del microorganismo se extiende mediante una torunda sobre toda la superficie del medio. A continuación, se colocan sobre la superficie de los medios discos de papel impregnados con cantidades específicas de antibiótico u otro agente antimicrobiano, se incuba la placa y se mide la zona de inhibición en torno a cada disco de antibiótico. La determinación de si el organismo es sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) a un agente específico se realiza mediante la comparación del tamaño de las zonas obtenidas con los tamaños enumerados en las tablas de valores críticos de EUCAST.

ANEXO 5

Método KIRBY-BAUER (38)

Este es un método cualitativo, que nos permite valorar la sensibilidad de los discos antibióticos a partir de los halos de inhibición obtenidos

Los pasos para el método de difusión agar son:


PASO 01: Preparación del Inóculo, a partir de una placa de cultivo incubada de 18 a 24 horas, coger varias colonias de *Escherichia Coli* ATCC 25922 con un asa bacteriológica y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland 0.5 en suero fisiológico. Agitar en un agitador "vortex" durante 15-20 segundos

PASO 02: Inoculación de las Placas, antes de que transcurran 15 minutos de haberse ajustado el inóculo, introducir un Hisopo dentro de la suspensión y al retirarlo rotar varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo. Inocular las placas de Mueller-Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consigue deslizando el hisopo por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.

PASO 03: Dispensación de los Discos, colocar los discos con los dispensadores o manualmente con pinzas estériles. Debe asegurarse que contacten perfectamente con la superficie del agar, por lo que deben presionarse ligeramente sobre la superficie del agar. No deben situarse a menos de 15 mm del borde de la placa, y han de estar distribuidos de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición. Para placas de 150 mm no se emplearán más de 12 discos y para las de 100 mm no más de 6 discos. Incubar las placas invertidas (agar en la parte superior), en grupos no superiores a 5 placas, a 35°C en atmósfera aeróbica antes de que transcurran 15 minutos.

Lectura de los Resultados, después de 18 horas de incubación leer el diámetro de las zonas de completa inhibición con un pie de rey o regla.


ANEXO 6

**San José**
LABORATORIO CLÍNICO
Calidad y profesionalismo al servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde el Sr. BEJARANO MELÉNDEZ JESÚS ALONSO, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado: "Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona", durante los días 21 al 25 de agosto de 2018, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 28 días del mes de agosto de 2018.


José Luis Culla Querecán
MICROBIOLOGO
G.B.P. 0201

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - 📠 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/